蜜蜂 microRNA 的研究进展

施腾飞, 余林生, 刘 芳*, 宗 超, 汪天澍

(安徽农业大学动物科技学院,安徽农业大学蜂业研究所,合肥 230036)

摘要: MicroRNA (miRNA)是一类长度为 18 ~ 24 nt 的内源性非编码小 RNA 分子,它能通过与靶标 mRNA 分子互补结合抑制蛋白质翻译或导致 mRNA 降解,从而调控靶基因表达。蜜蜂是重要的社会性经济昆虫,一直是国际上热门的研究对象。迄今为止,通过各种生物技术在蜜蜂中发现已鉴定注册的 miRNA 共有 218 个,对蜜蜂 miRNA 的研究表明其在蜜蜂的胚胎发育、级型分化、劳动分工和免疫防御等方面可能具有重要的调控作用。本文就 miRNA 对蜜蜂蜂王和工蜂级型分化、哺育蜂和采集蜂劳动分工、舞蹈行为、脑部神经功能及免疫防御等方面调控作用的最新研究进展进行了综述,以期为进一步研究 miRNA 提供借鉴和参考。

关键词: 蜜蜂; miRNA; 级型分化; 劳动分工; 免疫系统

中图分类号: Q966 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2014)05-0601-06

Progress in microRNAs in honey bees

SHI Teng-Fei, YU Lin-Sheng, LIU Fang*, ZONG Chao, WANG Tian-Shu (College of Animal Science and Technology, Institute of Apicultural Research; Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are a class of 18 – 24-nucleotide (nt), endogenously initiated, small noncoding, single stranded RNAs that can regulate target gene expression via either translational repression or mRNA degradation by combining with target mRNA complementarily. Honey bees are important eusocial and economic insects, and they have been the popular research objects at the international level. So far, 218 miRNAs in honey bees have been identified by a variety of biological technologies and registered. A series of studies on honey bee miRNAs showed that they are involved in regulating the embryonic development, caste differentiation, division of labor in workers and immunity defense. In this article, we reviewed the advances in researches of miRNAs in regulating caste differentiation between queen and worker bee, division of labor between nurse and forager, dancing behaviour, brain neurological function and immune defence in honey bees, aiming to provide references for further research.

Key words: Honey bees; miRNA; caste differentiation; division of labor; immune system

MicroRNA (miRNA)是一类长度为 18 ~ 24 nt 的内源性非编码单链 RNA 分子,它广泛存在于各种真核生物中,主要通过与靶基因 mRNA 的 3′非翻译区(3′UTR)不完全配对,使 mRNA 降解或有效抑制 mRNA 翻译成靶基因从而发挥作用(Bartel, 2004; Pillai *et al.*, 2005),在真核生物基因的转录、表达过程中起着重要的调控作用(Bartel, 2004; Kim, 2005)。研究显示,动物中约有 50% 以上编码基因的表达都受到 miRNA 的调控(Krol *et al.*, 2010)。最早被发现的 miRNA 是秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 中的 lin-4,当时 Lee 等(1993)在研究秀丽隐杆线虫幼虫发育特异性时发现 lin-4 不编码蛋白质,但对线虫幼虫早期的发育起着调节作用。lin-4 的发现并没有引起很大的关注,直到大约 7 年后,Ruvkun 和 Horvitz 的科研团队在线虫中鉴定出第 2 个 miRNA——let-7 (Reinhart *et al.*, 2000),以及大家对另一类短链 RNA——siRNA (small interfering RNA)开始感兴趣时,才意识到 miRNA 的重要性(Hamilton and Baulcombe, 1999; Zamore *et al.*, 2000),随后逐渐掀起了一股研究

基金项目: 国家自然科学基金项目(31302039, 31272511); 安徽省自然科学基金项目(1408085QC66); 高校省级优秀青年人才基金重点项目(2013SQRL018ZD)

作者简介: 施腾飞, 男, 1991 年 6 月生, 安徽阜阳人, 硕士研究生, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: 15256560984@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: liufangbgh@163.com

收稿日期 Received: 2014-01-06; 接受日期 Accepted: 2014-02-16

miRNA 的热潮。迄今,人们运用各种生物技术在哺乳动物、昆虫、病毒体等生物中发现已鉴定注册的 miRNAs 共有 24 521 个,其中在蜜蜂中发现 218 个(http://www.mirbase.org/)。

蜜蜂是重要的社会性经济昆虫,一直是国际上热门的研究对象,特别在社会性结构相关的诸多领域是研究热点。充分认识 miRNA 对蜜蜂各方面的调控机制,对于养蜂生产具有重要的指导意义。例如,了解 miRNA 对蜜蜂免疫系统方面的调控机制,就能针对性地有效地采取相关措施防治蜂群病虫害及细菌病毒感染;了解 miRNA 对蜜蜂劳动分工行为的调节机制,便能更好地掌握蜂群发展的规律,根据需要控制蜂群中各种不同分工蜜蜂的数量,从而达到增加蜂产品的产量的目的,而且也可以为人类认识动物行为的可塑性提供重要的线索。随着蜜蜂基因组测序的完成(Honey Bee Genome Sequencing Consortium, 2006),Weaver 等(2007)运用 3 种独立的计算方法在蜜蜂基因组中确认了 65 个非冗余候选的 miRNA,通过对蜜蜂 miRNA 转录差异分析发现 miRNA 可能参与调节蜜蜂的发育,更有可能是蜜蜂级型分化的关键性调控因子。自此蜜蜂领域 miRNA 的研究随之展开。近年的研究发现 miRNA 对蜜蜂级型分化、劳动分工行为、免疫系统等方面都可能发挥着重要的调控作用,本文就其最新的研究进展进行了综述。

1 miRNA 对蜜蜂级型分化的作用

一个正常的蜂群存在有三型蜂:蜂王、工蜂和雄蜂。雄蜂是由未受精卵发育而来,而蜂王和工蜂都由受精卵发育而来。近年来,已有很多研究人员从营养基础、内分泌调节、基因调控等多方面对蜂王和工蜂级型分化的调控机制进行了研究(Barchuk *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2013; Wheeler *et al.*, 2014; Bomtorin *et al.*, 2014)。

蜂王和工蜂出现级型分化的主要原因是由于它们幼虫时期食物的不同,蜂王幼虫食用哺育蜂分泌的蜂王浆,3 日龄内的工蜂幼虫食用哺育蜂分泌的蜂王浆,以后则食用蜂蜜和花粉的混合物(Jung-Hoffman, 1966),食物中的哪些因子在起作用一直是研究的热点(Chittka and Chittka, 2010)。Chen 等(2010)利用高通量测序技术 SOLiD 检测三型蜂各个发育阶段(卵、幼虫、蛹和成虫)miRNA 的表达情况,发现 267 个新 miRNA;对其进行跨物种分析发现其中 81 个 miRNA 在其他昆虫中有同系物,表明它们是真实存在的 miRNA,并与同系物具有相似的功能。这一研究结果为研究蜜蜂发育、级型分化等方面的 miRNA 调控网络提供了基础。Shi 等(2012)分别对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 与意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 蜂王浆中 miRNA 表达谱进行检测,发现两者存在着差异,由此推测 miRNA 在蜜蜂级型分化发挥着调控作用。Guo 等(2013)则运用高通量测序技术 Solexa 检测了意蜂工蜂浆和蜂王浆中的小 RNA 表达谱,发现工蜂浆中的 miRNA 表达量是蜂王浆中的 7~215 倍,而且在幼虫发育的第 4-6 天,工蜂幼虫食物和蜂王浆中 miRNA 表达量有明显的动态变化。另外,在给蜂王幼虫饲喂添加了特异性 miRNA 的蜂王浆之后,结果不仅导致其体内 mRNA 的表达出现明显的变化,而且发育而成的新蜂王的形态特征也有明显的变化,特别是添加了 miR-184 的蜂王浆,变化尤为明显。Guo 等(2013)的研究进一步证明了哺育蜂分泌物中的 miRNA 是蜜蜂级型分化调控机制的重要组成部分。

2 miRNA 与蜜蜂劳动分工行为的相关性

蜜蜂是典型的社会性昆虫,一直是人类研究动物复杂行为的最佳模式昆虫之一(Robinson *et al.*, 2005)。蜂群中的工蜂有着明确的劳动分工行为,包括采集、哺育、舞蹈、守卫等。采集和哺育是工蜂最典型的两种劳动分工行为,出房两周内的工蜂主要从事巢内哺育、清理巢房、贮存食物等工作,其中参与哺育工作的为哺育蜂;出房 3 周后的蜜蜂则主要从事一些采集工作,称为采集蜂(Winston, 1987; Robinson, 2002)。蜜蜂劳动分工行为转变的调节机制是怎样的,一直是研究的热点。许多研究者证实工蜂的这种社会分工行为,与群体生活需要和外界环境、工蜂生理和神经、脑部结构及内部化学物质、生理上伴随的激素改变、以及脑部基因表达等因素有关(Robinson, 1992; Fahrbach *et al.*, 1995; Robinson *et al.*, 1997; Schulz *et al.*, 2002; Whitfield *et al.*, 2003; Yamazaki *et al.*, 2006)。

Cheng 等(2007)研究了 miR-219 和 miR-132 对位于小鼠视交叉上核的生物钟的作用,他们发现 miR-219-1 是调节昼夜节律长度的时钟控制基因,miR-132 被依靠 MAPK/CREB 机制的光诱导作用激活,调节生物钟基因的表达和对光的吸收能力,表明 miRNA 是生理节律计时系统中的重要调节器。此

后又陆续有报道称 miRNA 在果蝇 *Drosophila melanogaster*、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 等生物中也有调节生理行为节律的作用（Yang *et al*.，2008；Sire *et al*.，2009）。miRNA 对蜜蜂劳动分工行为的调节作用的研究起步稍晚，最早是 Behura 和 Whitfield（2010）通过荧光定量检测采集蜂与哺育蜂脑部 miRNA 的表达情况，发现 ame-miRNA-124，ame-miRNA-14，ame-miRNA-276，ame-miRNA-13b，ame-miRNA-13a 和 ame-let-7 在哺育蜂中上调表达，而 ame-miRNA-12，ame-miRNA-9，ame-miRNA-219，ame-miRNA-210，ame-miRNA-263，ame-miRNA-92 和 ame-miRNA-283 在采集经验丰富的蜜蜂中上调表达，由此推测 miRNA 可能调控参与蜜蜂劳动分工行为的转变。之后，Greenberg 等（2012）通过高通量测序技术 Illmina 检测哺育蜂和采集蜂头部 miRNA 转录组，发现 ame-miR-184 和 ame-miR-2796 在采集蜂中上调表达，ame-miR-1 和 ame-miR-275 在哺育蜂中上调表达，并证实在有采集经验丰富蜜蜂的蜂群中，miRNA 的表达存在差异，反之则没有差异。同时他们还发现 ame-miR-2796 在所有检测到的 miRNA 中表达量最高，预测其靶基因，得出 ame-miR-2796 和其宿主的磷脂酶 C 基因有相同的作用，即调节蜜蜂的神经发育。这一结果一定程度上说明，miRNA 对蜜蜂行为有着调控作用，但是这也没有做深入的机制探讨验证。Liu 等（2012）利用 Solexa 技术检测哺育蜂和采集蜂头部 miRNA 的表达情况，并对两者的 miRNA 的表达谱进行差异显著性分析，最终发现哺育蜂和采集蜂中 9 种表达差异显著的 miRNAs：ame-miR-31a，ame-let-7，ame-miR-275 和 ame-miR-279 在哺育蜂中上调；ame-miR-13b，ame-miR-133，ame-miR-210，ame-miR-278 和 ame-miR-92a 在采集蜂中上调；预测这 9 种 miRNAs 的靶基因，发现这些靶基因中包含多种与神经功能相关的基因，由此推测这些 miRNAs 可能都是通过调控蜜蜂头部神经从而达到调控蜜蜂劳动分工行为的转变。对于蜜蜂 miRNA 在劳动分工行为上的研究不多，而且未真正深入到其机制作用机理。然而在果蝇领域，miRNA 对其行为调控的研究却更为深入丰富，较为经典的有，Luo 等（2012）的研究显示 dme-miR-279 通过 JAK-STAT 信号调节果蝇的活动节律，过表达 dme-miR-279 或 dme-miR-279 敲除的果蝇会出现随机时间间隔的清醒或睡眠，这些果蝇显示出无规律的活动模式，表明 dme-miR-279 是调控适当水平的 JAK-START 活性来维持果蝇正常活动模式的必须条件。蜜蜂的很多行为与果蝇相似，就如昼夜节律来说，哺育蜂主要在黑暗的巢房内工作，采集蜂主要在巢房外明亮环境里工作，采集蜂的活动也存在昼夜节律性而哺育蜂则没有（Eban-Rothschild *et al*.，2012）。结合已有的报道，也许可以大胆推测 miRNA 对蜜蜂这种特殊昼夜节律起调节作用，这些都需要用实验证明。

卵黄蛋白原是卵黄蛋白的前体，卵黄蛋白原基因几乎存在于所有的卵生物种中。研究表明，卵黄蛋白基因对蜜蜂行为成熟具有调节作用（Nelson *et al*.，2007；Nilsen *et al*.，2011；Wheeler *et al*.，2013）。近期，Nunes 等（2013）等运用特异性双链 RNA（dsRNA）干扰敲除哺育蜂体内的卵黄蛋白原基因，并分别对哺育蜂脑部和腹部表达差异的 miRNA 进行靶基因预测，发现这些靶基因参与到之前报道的影响采集行为的生物过程中包括胰岛素信号、保幼激素、蜕化类固醇信号，表明 miRNA 可能是是调控蜜蜂行为网络机制的重要组成部分。

3 miRNA 在蜜蜂其他方面的研究

Hori 等（2011）对蜜蜂脑部的 ame-miR-1000 和 ame-miR-276 进行靶标预测，发现大部分的预测靶标都是编码与神经功能相关的基因，表明 miRNA 参与蜜蜂神经功能的调控。Li 等（2012）运用 Solexa 技术对哺育蜂和舞蹈蜂头部小 RNA 的表达情况进行检测，并对两者的 miRNA 的表达谱进行差异分析，发现了在采集蜂和舞蹈蜂头部均存在的 miRNA 54 个，它们中的大部分在采集蜂中的表达量高于哺育蜂；又对 ame-miR-278 和 ame-miR-282 两种靶标基因与激活酶、神经功能、突出结合蛋白相关的 miRNA 进行实时荧光定量 PCR 差异显著性分析，发现 ame-miR-278 和 ame-miR-282 在采集蜂的表达量明显高于舞蹈蜂，表明 miRNA 在蜜蜂的舞蹈行为中可能发挥着重要调节作用。

除此，miRNA 在蜜蜂免疫系统方面的研究也取得了一些进展。关于 miRNA 在昆虫免疫系统方面的研究，较早的有 Winter 等（2007）研究了冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* miRNA 对疟原虫 *Plasmodium acuminatum* 入侵的防御功能反应，发现 aga-miR-34，aga-miR-1174，aga-miR-1175 和 aga-miR-989 的表达明显受到疟原虫入侵的影响，而且沉默冈比亚按蚊的 Dicer1 和 Ago1 的 mRNAs 会增加疟原虫感染的敏感性，表明 miRNA 作为新的生物因子参与到按蚊

的防御反应调控机制中。此后很多学者的研究表明 miRNA 对舞毒蛾 *Lymantria dispar* 幼虫、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、家蚕 *Bombyx mori*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫的免疫系统都可能发挥着重要的调控作用(Gundersen-Rindal and Pedroni, 2010; Hussain *et al.*, 2011; Thirugnanasambantham *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2013; Jayachandran *et al.*, 2013)。miRNA 具有高度的保守性,对各种生物 miRNA 的研究都是相辅相成的,以上对其他昆虫 miRNA 的研究成果为其在蜜蜂上的研究提供了重要的理论基础。Lourenço 等(2013)利用实时荧光定量 PCR 分别检测了被革兰氏阳性菌 *Micrococcus luteus* 和革兰氏阴性菌 *Serratia marcescens* 感染的工蜂 miRNA 的表达情况,发现在被 *Serratia marcescens* 感染的工蜂 ame-miR-12, ame-bantam, ame-miR-34, ame-miR-184, ame-miR-278, ame-miR-375, ame-miR-989 和 ame-miR-1175 等表达量下调,ame-*let*-7, ame-miR-2, ame-miR-13a 和 ame-miR-92a 等表达量上调。此研究表明 miRNA 是蜜蜂免疫系统的潜在调控机制,但具体的调控模式是怎样的还需要进一步的印证。

4 小结与展望

miRNA 对于基因转录后的调控有着重要的调节作用,它的发现对于建立基因的转录后调控机制具有里程碑的意义。miRNA 对生物细胞生成、分化、凋亡,胚胎发育,神经发生,免疫应答及疾病的发生等有着重要的调控作用,已经成为生命科学领域研究的一个新的热点。迄今,人们在对 miRNA 的研究中取得了很多重要的进展,尤其以生物信息学为基础的各式预测软件的面世及综合数据库的建立后,为研究人员获取 miRNA 方面的信息提供了极大的便利,大大加快了 miRNA 研究的速度。

对蜜蜂 miRNA 的研究表明其在蜜蜂发育分化、劳动分工行为、免疫系统的方面都可能发挥着重要的调控作用。但是当前的研究只是筛选了一些可能对蜜蜂具有调控作用的 miRNA,具体是哪些 miRNA 在起作用以及具体的作用机制还是未知的,故建立蜜蜂 miRNA 功能库是该领域亟待解决的问题。Nunes 等(2013)通过敲除蜜蜂卵黄蛋白原基因推测 miRNA 可能具有的功能为蜜蜂 miRNA 的研究提供了新的途径,以后的研究中可运用特异性 dsRNA 对相应蜜蜂 miRNA 进行敲除来研究特异 miRNA 的功能;另外蜜蜂 RNAi 技术的应用几乎都采取腹部注射特异性 siRNA/dsRNA (Amdam *et al.*, 2003; Paldiet *et al.*, 2010; Jarosch and Moritz, 2012; Li-Byarlay, 2013),然而腹部注射特异性 siRNA/dsRNA 可能只在其周围起作用,而不能到达头部等部位发挥作用(Jarosch and Moritz, 2011),研发建立新的导入 siRNA/dsRNA 的方法也将是近期进行蜜蜂 miRNA 功能研究的关键步骤。随着生物学研究技术的不断发展以及对 miRNA 研究的不断深入,这些问题在以后的研究中将会逐步得到解决。

参考文献 (References)

Amdam GV, Simoes ZL, Guidugli KR, Norberg K, Omholt, SW, 2003. Disruption of vitellogenin gene function in adult honeybees by intra-abdominal injection of double-stranded RNA. *BMC Biotechnology*, 3: 1.

Barchuk AR, Cristino AS, Kucharski R, Costa LF, Simões ZLP, Maleszka R, 2007. Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera*. *BMC Developmental Biology*, 7: 70.

Bartel DP, 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116: 281 – 297.

Behura SK, Whitfield CW, 2010. Correlated expression patterns of microRNA genes with age-dependent behavioural changes in honeybee. *Insect Molecular Biology*, 19(4): 431 – 439.

Bomtorin AD, Mackert A, Rosa GCC, Moda LM, Martins JR, Bitondi MMG, Hartfelder K, Simoes ZLP, 2014. Juvenile hormone biosynthesis gene expression in the corpora allata of honey bee (*Apis mellifera* L.) female castes. *PLoS ONE*, 9(1): e86923.

Chen X, Yu X, Cai Y, Zheng H, Yu D, Liu G, Zhou S, Hu F, 2010. Next-generation small RNA sequencing for microRNAs profiling in the honey bee *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 19: 799 – 805.

Cheng HYM, Papp JW, Varlamova O, Dziema H, Russell B, Curfman JP, John P, Nakazawa T, Shimizu K, Okamura H, Impey S, Obrietan K, 2007. MicroRNA modulation of circadian-clock period and entrainment. *Neuron*, 54(5): 813 – 829.

Chittka A, Chittka L, 2010. Epigenetics of royalty. *PLoS Biology*, 8(11): e1000532.

Fahrbach SE, Giray T, Robinson GE, 1995. Volume changes in the mushroom bodies of adult honey bee queens. *Neurobiology of Learning and Memory*, 63: 181 – 191.

Eban-Rothschild A, Shemesh Y, Bloch G, 2012. The colony environment, but not direct contact with conspecifics, influences the development of circadian rhythms in honey bees. *Journal of Biological Rhythms*, 27(3): 217 – 225.

Greenberg JK, Xia J, Zhou X, Thatcher SR, Gu X, Ament SA, Newman TC, Green PJ, Zhang W, Robinson GE, Ben-Shahar Y, 2012. Behavioral plasticity in honey bees is associated with differences in brain microRNA transcriptome. *Genes, Brain and*

Behavior, 11(6): 660–670.

Gundersen-Rindal DE, Pedroni MJ, 2010. Larval stage *Lymantria dispar* microRNAs differentially expressed in response to parasitization by *Glyptapanteles flavicoxis* parasitoid. *Archives of Virology*, 155(5): 783–787.

Guo XQ, Su SK, Skogerboe G, Dai SJ, Li WF, Li ZG, Liu F, Ni RF, Guo Y, Chen SL, Zhang AW, Chen RS, 2013. Recipe for a busy bee: microRNAs in honey bee caste determination. *PLoS ONE*, 8(12): e81661.

Hamilton AJ, Baulcombe DC, 1999. A species of small RNA antisense in post transcriptional gene silencing in plants. *Science*, 286: 950–952.

Honey Bee Genome Sequencing Consortium, 2006. Insights into social insects form the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443: 931–949.

Hori S, Kaneko K, Saito TH, Takeuchi H, Kubo T, 2011. Expression of two microRNAs, ame-mir-276 and -1000, in the adult honeybee (*Apis mellifera*) brain. *Apidologie*, 42(1): 89–102.

Hussain M, Frentiu FD, Moreira LA, O'Neill SL, Asgari S, 2011. *Wolbachia* uses host microRNAs to manipulate host gene expression and facilitate colonization of the dengue vector *Aedes aegypti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(22): 9250–9255.

Jarosch A, Moritz RFA, 2011. Systemic RNA-interference in the honeybee *Apis mellifera*: tissue dependent uptake of fluorescent siRNA after intra-abdominal application observed by laser-scanning microscopy. *Journal of Insect Physiology*, 57(7): 851–857.

Jarosch A, Moritz RFA, 2012. RNA interference in honeybees: off-target effects caused by dsRNA. *Apidologie*, 43(2): 128–138.

Jayachandran B, Hussain M, Asgari S, 2013. Regulation of *Helicoverpa armigera* ecdysone receptor by miR-14 and its potential link to baculovirus infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 114(2): 151–157.

Jung-Hoffman I, 1966. Die determination von Köningin und Arbeiterin der Honigbiene. *Z. Bienenforsh.*, 8: 296–322.

Kim VN, 2005. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6: 376–385.

Krol J, Loedige I, Filipowicz W, 2010. The widespread regulation of microRNA biogenesis function and decay. *Nature Reviews Genetics*, 11: 597–610.

Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V, 1993. The *Caenorhabditis elegans* heterochronic gene *lin*-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin*-14. *Cell*, 75 (5): 843–854.

Li L, Liu F, Li WF, Li ZG, Pan J, Yan L, Zhang SW, Huang ZY, Su SK, 2012. Differences in microRNAs and their expressions between foraging and dancing honey bees, *Apis mellifera* (L.). *Journal of Insect Physiology*, 58: 1438–1443.

Li WF, Huang ZY, Liu F, Li ZG, Yan LM, Zhang SW, Chen SL, Zhong BX, Su SK, 2013. Molecular cloning and characterization of juvenile hormone acid methyltransferase in the honey bee, *Apis mellifera*, and its differential expression during caste differentiation. *PLoS ONE*, 8(7): e68544.

Li-Byarlay HM, Li Y, Stroud H, Feng SH, Newman TC, Kaneda M, Hou KK, Worley KC, Elsik CG, Wickline SA, Jacobsen SE, Ma J, Robinson GE, 2013. RNA interference knockdown of DNA methyl-transferase 3 affects gene alternative splicing in the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(31): 12750–12755.

Liu F, Peng W, Li ZG, Li WF, Li L, Pan J, Zhang SW, Miao YG, Chen SL, Su SK, 2012. Next-generation small RNA sequencing for microRNAs profiling in *Apis mellifera*: comparison between nurses and foragers. *Insect Molecular Biology*, 21(3): 297–303.

Lourenço P, Guidugli-Lazzarini KR, Freitas CP, Bitondi MG, Simões LP, 2013. Bacterial infection activates the immune system response and dysregulates microRNA expression in honey bees. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43: 474–482.

Luo W, Sehgal A, 2012. Regulation of circadian behavioral output via a microRNA-JAK/STAT circuit. *Cell*, 148: 765–779.

Nelson CM, Ihle KE, Fondrk MK, Page RE, Amdam GV, 2007. The gene *vitellogenin* has multiple coordinating effects on social organization. *PLoS Biology*, 5(3): 62.

Nilsen KA, Ihle KE, Frederick K, Fondrk MK, Smedal B, Hartfelder K, Amdam GV, 2011. Insulin-like peptide genes in honey bee fat body respond differently to manipulation of social behavioral physiology. *Journal of Experimental Biology*, 214 (9): 1488–1497.

Nunes FMF, Ihle KE, Mutti NS, Simões ZLP, Amdam GV, 2013. The gene vitellogenin affects microRNA regulation in honey bee (*Apis mellifera*) fat body and brain. *Journal of Experimental Biology*, 216 (19): 3724–3732.

Paldi N, Glick E, Oliva M, Zilberberg Y, Aubin L, Pettis J, Chen YP Evans JD, 2010. Effective gene silencing in a microsporidian parasite associated with honeybee (*Apis mellifera*) colony declines. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(17): 5960–5964.

Pillai RS, Bhattacharyya SN, Artus CG, Zoller T, Cougot N, Basyuk E, Bertrand E, Filipowicz W, 2005. Inhibition of translational initiation by *let*-7 microRNA in human cells. *Science*, 309: 1573–1576.

Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G, 2000. The 21-nucleotide *let*-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabitis elegans*. *Nature*, 403(6772): 901–906.

Robinson GE, 2002. Genomics and integrative analyses of division of labor in honeybee colonies. *The American Naturalist*, 160: S160–S172.

Robinson GE, Fahrbach SE, Winston ML, 1997. Insect societies and the molecular biology of social behavior. *Bioessays*, 19: 1099–1108.

Robinson GE, Grozinger CM, Whitfield CW, 2005. Sociogenomics: social life in molecular terms. *Nature Reviews Genetics*, 6: 257–270.

Robinson, GE, 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annual Review of Entomology*, 37: 637–665.

Schulz DJ, Barrona AB, Robinsona GE, 2002. A role for octopamine in honey bee division of labor. *Brain, Behavior and Evolution*, 60:

350 - 359.

Shi YY, Wu XB, Huang ZY, Wang ZL, Yan WY, Zeng ZJ, 2012. Epigenetic modification of gene expression in honey bees by heterospecific gland secretions. *PLoS ONE*, 7(8): e43727.

Sire C, Moreno AB, Garcia-Chapa M, Lopez-Moya JJ, San Segundo B, 2009. Diurnal oscillation in the accumulation of *Arabidopsis* microRNAs, miR167, miR168, miR171 and miR398. *FEBS Letters*, 583: 1039 - 1044.

Thirugnanasambantham K, Hairul-Islam VI, Saravanan S, Subasri S, Subastri A, 2013. Computational approach for identification of *Anopheles gambiae* miRNA involved in modulation of host immune response. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(2): 281 - 291.

Weaver DB, Anzola JM, Evans JD, Reid JG, Reese JT, Childs KL, Zdobnov EM, Samanta MP, Miller J, Elsik CG, 2007. Computational and transcriptional evidence for microRNAs in the honey bee genome. *Genome Biology*, 8(6): R97.

Wheeler DE, Buck NA, Evans JD, 2014. Expression of insulin/insulin-like signalling and TOR pathway genes in honey bee caste determination. *Insect Molecular Biology*, 23(1): 113 - 121.

Wheeler MM, Ament SA, Rodriguez-Zas SL, Robinson GE, 2013. Brain gene expression changes elicited by peripheral vitellogenin knockdown in the honey bee. *Insect Molecular Biology*, 22(5): 562 - 573.

Whitfield CW, Cziko AM, Robinson GE, 2003. Gene expression profiles in the brain predict behavior in individual honey bees. *Science*, 302: 296 - 299.

Winston ML, 1987. The Biology of the Honeybee. Havard Univerfsity Press, Cambridge, MA.

Winter F, Edaye S, Huttenhofer A, Brunel C, 2007. *Anopheles gambiae* miRNAs as actors of defence reaction against *Plasmodium* invasion. *Nucleic Acids Research*, 35: 6953 - 6962.

Wu P, Han SH, Chen T, Qin GX, Li L, Guo, XJ, 2013. Involvement of microRNAs in infection of silkworm with *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus (BmCPV). *PLoS ONE*, 8(7): e28609.

Yamazaki Y, Shirai K, Paul RK, Fujiyuki T, Wakamoto A, Takeuchi H, Kubo T, 2006. Differential expression of *HR38* in the mushroom bodies of the honeybee brain depends on the caste and division of labor. *FEBS Letters*, 580(11): 2667 - 2670.

Yang M, Lee JE, Padgett RW, Edery I, 2008. Circadian regulation of a limited set of conserved microRNAs in *Drosophila*. *BMC Genomics*, 9: 83.

Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA and Bartel DP, 2000. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. *Cell*, 101: 25 - 33.

（责任编辑：袁德成）